

## 自動血球計数CRP測定装置 LC-178 CRP

長尾 俊治，大上 創一，山尾 泰生

自動血球計数CRP測定装置は、診察室に設置でき、採血管一本の採血から患者の目の前ですぐに、白血球、赤血球、血小板、ヘモグロビン、CRPの測定結果が得られるため、炎症性疾患、感染症の初期診断用装置として非常に高い評価をいただいている。これまでに白血球3分類の測定機能の追加を行っており、更に今回開発したLC-178 CRPは、改良型CRP試薬の採用により、従来機種との簡便さ・迅速さをそのままに、全血におけるCRPの測定範囲を、従来の0.2～10.0 mg/dLから2倍の0.2～20.0 mg/dLまで拡大した。これにより、従来と比べ広範囲の炎症状態が把握できると期待される。

### はじめに

医院や病院において“必要な項目を、必要な時に、必要な場所で、精度よく、短時間で、簡単に検査を行う”体制作りが検討されている。これはPOCT( Point Of Care Testing )と呼ばれ、医師が正しい診断と治療方針の決定を迅速に行うことに欠かせない。また、これにより患者への身体的、経済的負担軽減も達成できると考えられている。このため、低コストでPOCTに対応した検査システムの実現が強く望まれている。

HORIBAとABXは、これらのニーズを受けて、自動血球計数CRP測定装置FL-270 CRPを1998年4月に共同で開発し、製品化した<sup>[1]</sup>。この装置は、全血検体を試料ホルダにセットするだけの簡単な操作で、赤血球、ヘモグロビン、血小板、更に、炎症性疾患、感染症の診断の際に有効な指標となる白血球数(WBC)とC反応性タンパク(C-Reactive Protein: CRP)を、5分足らずという短時間で測定することができる。また、FL-270 CRPの上位機種として、白血球3分類測定機能を付加したLC-170 CRPを2000年3月に、更にこの改良型であるLC-175 CRPを2002年3月に発売し、臨床検査の現場で幅広く使われている。

今回開発したLC-178 CRP(図1)は、改良型CRP試薬の採用により従来機種との簡便さ・迅速さをそのままに、CRPの測定範囲を従来の0.2～10.0 mg/dL<sup>\*1</sup>から2倍の0.2～20.0 mg/dL<sup>\*2</sup>まで拡大した。本稿では、LC-178 CRPの測定原理、性能について報告する。

\*1：血漿・血清検体の場合は0.2～7.0 mg/dL。

\*2：血漿・血清検体の場合は0.2～15.0 mg/dL。



図1 LC-178 CRP

## 測定原理

LC-178 CRPでは、従来機種と同様、血球の計数にはインピーダンス法を、ヘモグロビンの濃度測定にはシアニンメトヘモグロビン法を、CRPの濃度測定にはラテックス免疫比濁法を用いている。

### 白血球 / 赤血球 / 血小板の測定

血液中の血球成分である白血球 (WBC)、赤血球 (RBC)、血小板 (PLT) はインピーダンス法で測定する。血液検体を生理食塩水を主成分とする電気伝導性の高い希釈液 (商品名: ミノトン3D) で適当な濃度に希釈し、測定セル内の2つの電極間に設けたアパーチャを通過させると、血液細胞 (血球) の通過時に電極間の電気抵抗が変化する (図2)。この抵抗変化のパルス数から血球の数を、またパルスの高さから血球の容積 (種類) を検出することができる。

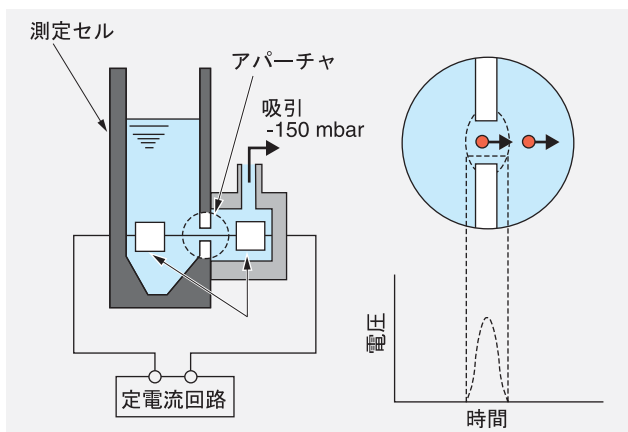


図2 白血球 / 赤血球 / 血小板の測定原理 (インピーダンス法)

### 血球の粒度分布

血球の形状は種類によって必ずしも一定でなく、また測定途中で変形することもある。これらの影響を補正し正確な血球計数を行うため、血球の種類に応じて得られたパルスの高さ (血球容積) のヒストグラム (血球粒度分布) を作成し、最適の血球容積領域で計数する。LC-178 CRPでは、計数条件を次のように設定している。

- WBC : 容積範囲0 ~ 430 fLを256チャンネルに分割、計数領域は約30 ~ 430 fL。
- RBC : 容積範囲0 ~ 300 fLを256チャンネルに分割、計数領域は約25 ~ 300 fL。
- PLT : 容積範囲0 ~ 33 fLを128チャンネルに分割、計数領域は約1 ~ 27 fLの間で最適閾値を自動設定。

### 白血球の3分類 (3-part diff)

白血球は生体の防御機構の要となるもので、白血球の計数はさまざまな感染症の診断に欠かせない。白血球には、好中球 (neutrophil)、好酸球 (eosinophil)、好塩基球 (basophil)、単球 (monocyte)、リンパ球 (lymphocyte) の5種類の細胞がある。なお、一般的に、好中球、好酸球、好塩基球の3種類を併せて、顆粒球 (granulocyte) と総称している。

白血球を細胞種ごとに分画し計数することは、的確な診断・治療に非常に有用な情報をもたらす。LC-178 CRPは、中でも特に重要な、単核球<sup>\*3</sup>、リンパ球、顆粒球の3種を分画計数 (3-part diff) することができる。

図3に、白血球の代表的なヒストグラムと3分類の閾値を示す。

\*3: 単核球は単球とリンパ球の総称であるが、ここでは単球 + 大きなリンパ球の意味で使用。

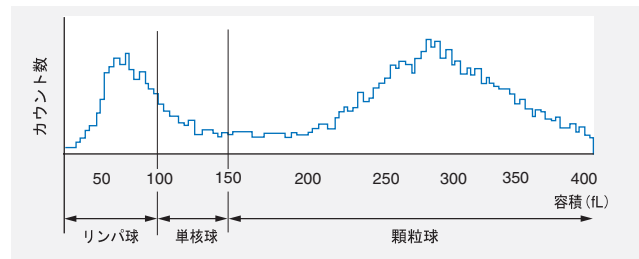


図3 白血球の代表的なヒストグラムと3分類閾値

### 白血球分類の原理と試薬

白血球の分類は、3分類専用の希釈液 (ミノトン3D) と溶血剤 (商品名: ミノライズ3D) を使い、以下の作用により希釈・溶血後に容積が変化する程度が異なることを利用して行う。

希釈液は白血球の細胞膜を保護する。溶血剤は赤血球と血小板を壊した上で、3種類の白血球に収縮作用を及ぼす。リンパ球では、溶血剤によって細胞質内から脱水が起こり、核膜が収縮 (裸核化) する。単核球、顆粒球では裸核化の程度が順に小さくなっていく。

## ヘモグロビン濃度

ヘモグロビン濃度(Hgb)は国際血液学標準化委員会(ICSH)で国際標準法として定められているシアンメトヘモグロビン法で測定する(図4)。

血液に溶血剤(ミノライズ3D)を加えると、赤血球が壊れヘモグロビンが流れ出る。すると、ミノライズ3D中の酸化物質によりヘモグロビンがメトヘモグロビンに変化し、更にミノライズ3D中のシアンとメトヘモグロビンが結合し、シアンメトヘモグロビンを生成する。このシアンメトヘモグロビンは緑色(540 nm)の光をよく吸収するため、この吸光度からHgbの濃度を測定する。

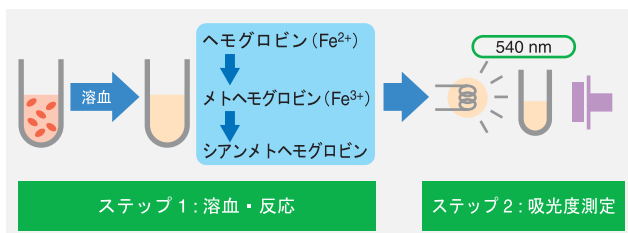


図4 ヘモグロビン濃度の測定原理(シアンメトヘモグロビン法)

## CRPの測定

CRP濃度は、ラテックス免疫比濁法で測定する。血液検体を専用の溶血剤で溶解し、これに抗ヒトCRP抗体感応性のラテックスを加えると血液中のCRP抗原が抗原・抗体反応を起こし、CRP濃度に応じてラテックスが凝集する(図5)。このラテックス凝集による濁度の変化を、850 nmにおける吸光度変化の値として測定する。この値と血球計数で得られるヘマトクリット値(Hct)<sup>4</sup>とから、補正演算式を用いて血漿中のCRP濃度を算出する(以上の手順を組み合わせた測定法は、HORIBAの特許(日本 特許第3249919号、米国 特許 No.6030845、欧州は出願中)で、社団法人発明協会の平成16年度全国発明表彰において日本弁理士会会長賞を受賞した。)

\*4：血液中に占める赤血球の容積の割合。

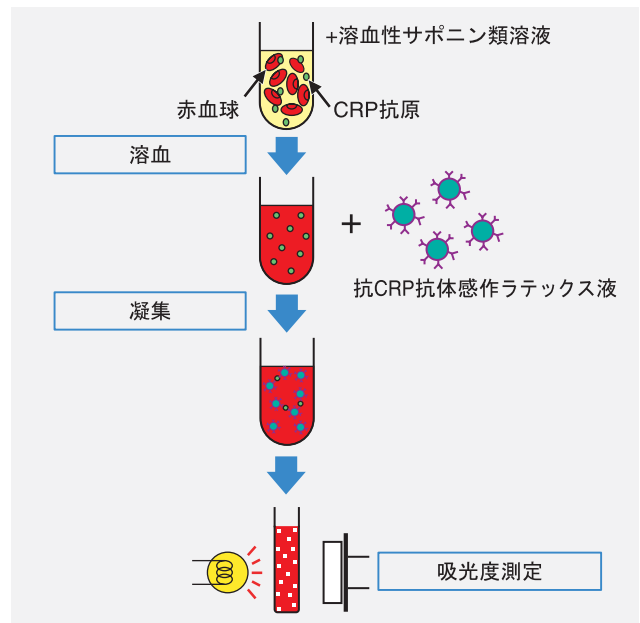


図5 CRP濃度の測定原理

## 測定手法

LC-178 CRPの試料と試薬及び信号のフローを図6に示す。

検査者があらかじめ抗凝固剤が入っている採血管に血液検体を採取し、この採血管を装置本体の試料ホルダにセットすると測定が開始される。

まず、CRP測定用試薬R1(溶血剤:溶血性サポニン類溶液)100 μLと採血管の検体血液 8 μLが、CRP混合 Cellで混合、攪拌される。次に、採血管の検体血液 10 μLがWBC Cellに入り、希釈液(ミノトン3D)で1/300に希釈される。その一部が分取されて、RBC Cellで1/20,000まで希釈される。WBC Cellでは溶血剤(ミノライズ3D)を加えてWBCの計数とヘモグロビン(Hgb)の濃度を測定する。また、RBC CellではRBCとPLTが計数される。一方、CRP混合 Cellでは、CRP測定用試薬R2(緩衝液)100 μLとCRP測定用試薬R3(凝集剤:抗CRP抗体結合ラテックス液)200 μLが順次混合され、抗原抗体反応によるラテックス凝集によって生じた濁度の変化からCRPの濃度が測定される。

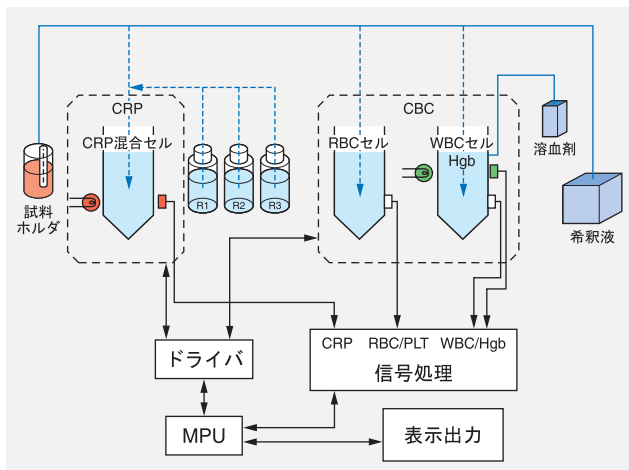


図6 LC-178 CRPの試料と試薬及び信号のフロー(模式図)

表1 LC-178CRPの主な仕様

測定モード	CBCモード(血算項目のみ) CBC+CRPモード(血算項目+CRP項目) QX(CBC)モード(血算項目の精度管理) QX(CRP)モード(CRP項目の精度管理)
測定項目 (演算,表示項目を含む)	WBC(白血球数),LYM#(リンパ球数),MON#(単球数), GRA#(顆粒球数),RBC(赤血球数),Hgb(ヘモグロビン濃度),Hct(ヘマトクリット値),PLT(血小板数), CRP(C反応性蛋白濃度),LYM%(リンパ球比率), MON%(単球比率),GRA%(顆粒球比率), MCV(平均赤血球容積),MCH(平均赤血球ヘモグロビン量),MCHC(平均赤血球ヘモグロビン濃度), RDW(赤血球粒度分布幅),MPV(平均血小板容積), PDW(血小板粒度分布幅),PCT(血小板クリット値), 白血球3分類度分布図,赤血球粒度分布図, 血小板粒度分布図
測定方式	WBC,RBC,Hct,PLT:インピーダンス法 Hgb:シアンメトヘモグロビン法 CRP:ラテックス免疫比濁法
検体量	CBCモード :10 µL CBC+CRPモード :18 µL QX(CBC)モード :10 µL QX(CRP)モード :18 µL
測定時間	CBCモード :約75 s CBC+CRPモード :約270 s QX(CBC)モード :約75 s QX(CBC+CRP)モード :約270 s
電源	AC 100 V 50/60 Hz
消費電力	150 VA以下
寸法	300(W)×400(D)×410(H)mm
質量	本体 約18 kg

## 特長

従来機種を持つ“検体を前処理せずに試料ホルダにセットするだけで、血球計数・白血球3分類・CRP定量測定”の全19項目を、同時にしかも迅速に全自動測定できる”という機能をそのままに、LC-178 CRPには、次のような特徴が追加されている。

### (1) CRP測定範囲の拡大

従来機種では、CRP測定範囲は全血で0.2～10mg/dL、血清・血漿で0.2～7mg/dLであった。LC-178 CRPでは、改良型CRP試薬の採用で高濃度領域の直線性が飛躍的に改善された。その結果、測定範囲は全血で0.2～20mg/dL、血清・血漿で0.2～15mg/dLと従来機種の2倍に拡大された。これにより、従来より広範囲の炎症状態がモニタできるようになると期待される。

### (2) 検体記憶の標準装備

LC-175 CRPより、オプションカードを取り付けることで、最大50検体の測定データ記憶と30検体の精度管理用データ記憶及び精度管理演算が可能となった。LC-178 CRPでは、この機能を標準装備として、今後重要となるデータ管理により柔軟に対応できるようにした。

表1にLC-178 CRPの主な仕様を、図7に測定結果のプリントアウト例を示す。

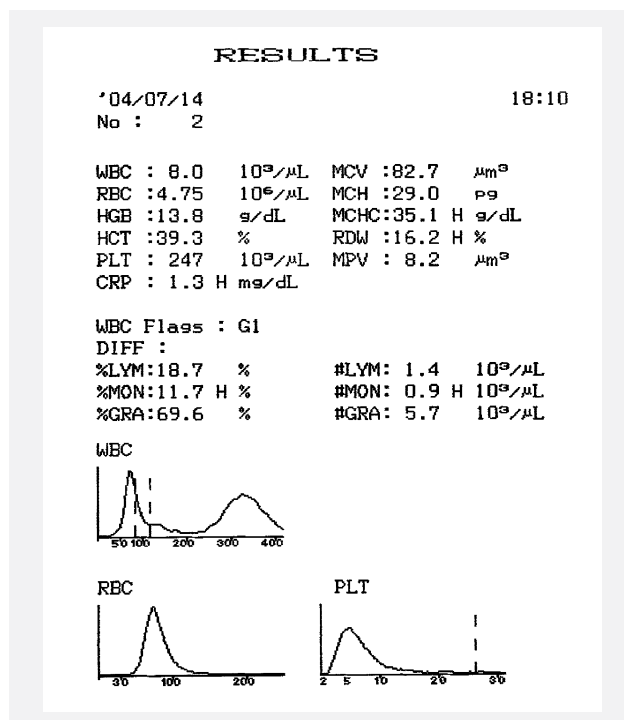


図7 LC-178 CRPのプリントアウト例

## 評価

LC-178 CRPの拡大したCRP測定範囲での相関性を確認するために、全血での従来機種とのCRP濃度値の相関性試験を行った。また、血清・血漿について基準機として汎用生化学自動分析装置とのCRP濃度値の相関性確認試験を行った。

### (1) 従来機種(従来型CRP試薬使用)とのCRP濃度値相関性

同一検体を従来機種(LC-175 CRP)とLC-178 CRPで測定し、CRP濃度値の相関を確認した。LC-175 CRPでは従来型CRP試薬を使用しているため、全血検体のCRP測定範囲は0.2~10.0 mg/dLである。従って本試験では、10.0 mg/dL以上の全血検体を測定する際は全血検体を希釈測定し、得られた値に希釈倍率をかけた値を測定値とした。この結果、図8に示すような良好な相関が確認され、LC-178 CRPの拡大したCRP測定範囲で有効な測定値が得られることが確認できた。

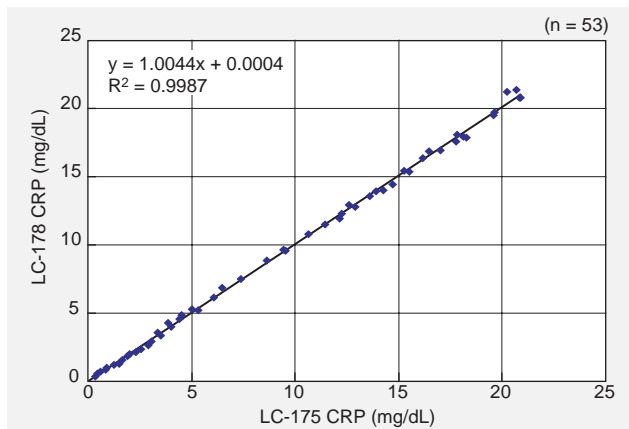


図8 LC-178 CRPとLC-175 CRP(従来機種)とのCRP濃度値の相関(全血)

### (2) 基準機とのCRP濃度値相関性

同一の全血、血清及び血漿検体を同じ改良型CRP試薬を使用してLC-178 CRPと日立7170型生化学自動分析装置(基準機)で測定し、CRP濃度値の相関を確認した。この結果、図9、10、11に示すように良好な相関が確認された。

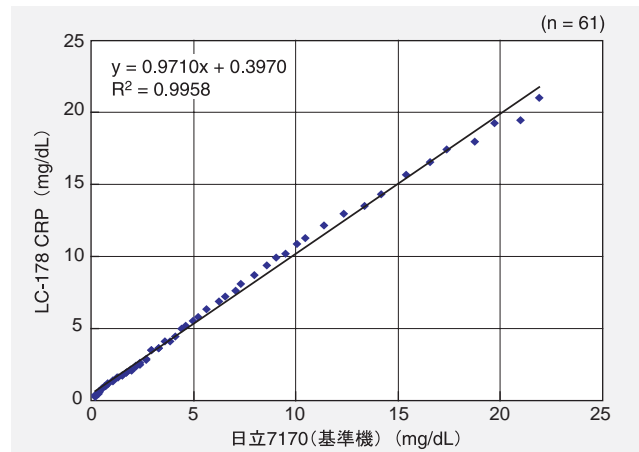


図9 全血でのLC-178 CRPと日立7170(基準機)とのCRP濃度値の相関

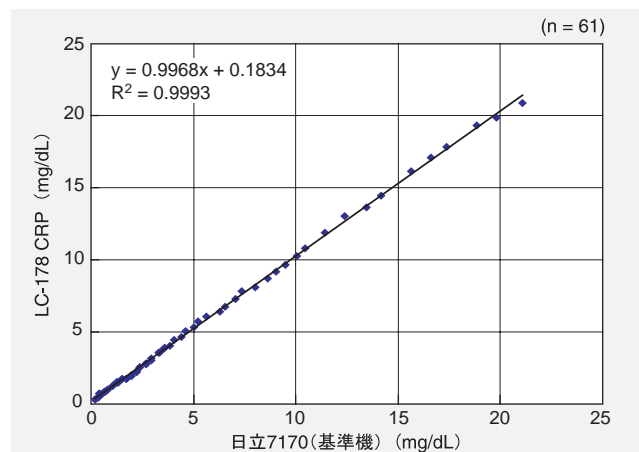


図10 血漿でのLC-178 CRPと日立7170(基準機)とのCRP濃度値の相関

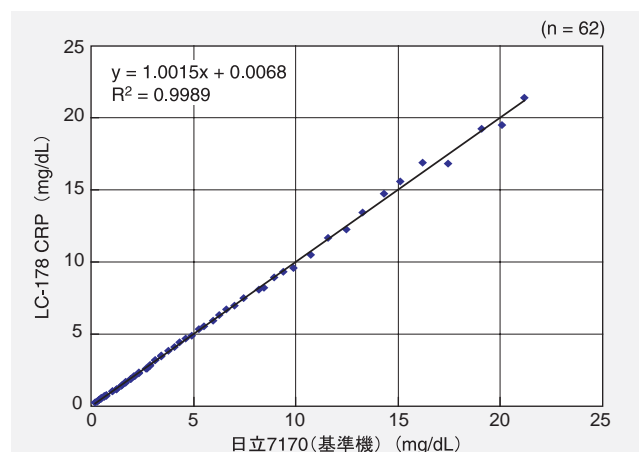


図11 血清でのLC-178 CRPと日立7170(基準機)とのCRP濃度値の相関



## おわりに

LC-178 CRPは、既に医療の現場で幅広くお使いいただいているLC-175 CRPの最大の特長である“検体を前処理せずに試料ホルダにセットするだけで、血球計数・白血球3分類・CRP定量測定的全19項目を、同時にしかも迅速に全自動測定できる”という機能をそのままに、CRPの測定範囲を従来の2倍にまで拡大した。

医療制度の改革が急速に進み、低コストでPOCTに対応した検査システムの実現が強く望まれている今日、HORIBAは“必要な検査を、必要な時に、必要な場所で、精度よく、短時間で、しかも、誰にでも簡単に扱える血液検査システム”としてLCシリーズを更に充実していく所存である。

### 参考文献

- [ 1 ] 山尾 泰生 , 奥 成博 , Henri Champeix , 自動血球計数CRP測定装置LC-270 , Readout No.16, 11-15 ( 1998 )
- [ 2 ] 山尾 泰生 , 白血球分類自動血球計数CRP測定装置LC-170 CRP , Readout No.20, 27-31 ( 2000 )



長尾 俊治

Shunji Nagao

医用システム開発部  
チームリーダー



大上 創一

Souichi Oue

医用システム開発部



山尾泰生

Yasuo Yamao

科学医用生産部  
マネージャー